

Efectos de una dieta hiperlipídica sobre la carcinogénesis mamaria experimental: contenido y tipo de tumores

E. Escrich*, J. Muntané**, T. Ribalta**, J. Colom*, M. Solanas* y R. Segura***

* Departamento de Biología Celular y Fisiología. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Barcelona.

** Departamento de Anatomía Patológica y *** Departamento de Ciencias Fisiológicas Humanas y de la Nutrición. Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona.

En el presente trabajo se han estudiado los efectos de una dieta hiperlipídica (20 % aceite de maíz) sobre las principales etapas de la carcinogénesis. Dicho estudio se ha realizado utilizando como soporte experimental el modelo del cáncer de mama inducido en la rata mediante dimetilbenz(a) antraceno. Los tumores mamarios malignos representan la patología más abundante aparecida en los animales. Tal resultado es atribuido específicamente a la acción del carcinógeno. Por otra parte, al comparar el número de tales tumores entre los diferentes grupos experimentales y el grupo control, se observa que la dieta hiperlipídica administrada tiene efectos promotores de la carcinogénesis mamaria en la rata. Este efecto no se obtiene si la dieta hiperlipídica se administra a los 157 días de la inducción carcinogénica. Además, los resultados obtenidos también indican que dicha dieta no tiene acción sobre la iniciación. Sin embargo, tal probabilidad no puede afirmarse dado que cabe la posibilidad de que la dieta hiperlipídica haya inducido cambios en los animales que hayan modificado la eficacia de la carcinogénesis.

Effects of a hyperlipidic diet on experimental carcinogenesis of the breast: content and type of tumors

In this study we have analyzed the effects of a hyperlipidic diet (20 % of corn oil) on the main stages of carcinogenesis. This study is based on an experimental model of murine breast cancer induced with dimethylbenz(a)anthracene. Malignant tumors represent the most frequent pathology in animals. This effect is specifically attributed to the action of the carcinogenic agent. Comparison between controls and animals with different types of tumors revealed that the hyperlipidic diet promotes carcinogenesis of the breast in rats. This effect is not observed in cases in which

the hyperlipidic diet was administered 157 days after induction of carcinogenesis. The results appear to support the concept that this diet has no effect on tumor initiation. However, this can not be entirely demonstrated in this study since the possibility that the hyperlipidic diet had modified the efficacy of carcinogenesis can not be ruled out.

INTRODUCCIÓN

Existen diversos estudios realizados en humanos y en animales de laboratorio que indican que los lípidos de la dieta estimulan el cáncer de mama¹. Sin embargo, el mecanismo de tal acción no es bien conocido en la actualidad. A pesar de que se han aportado datos en este sentido, una de las incógnitas aún no resueltas es la del momento en el que estos lípidos ejercen su acción. El presente estudio ha sido diseñado con el fin de contribuir a resolver esta cuestión. El objetivo del mismo ha consistido en determinar, en un modelo experimental de cáncer de mama en rata, los efectos de una dieta rica en ácidos grasos poliinsaturados de origen vegetal sobre las principales etapas de la carcinogénesis.

MATERIAL Y MÉTODOS

Dietas

Se diseñaron dos dietas semisintéticas: una de composición normal para la rata —N3— (caseína: 18 %; dextrosa: 67,9 %; aceite de maíz: 3 %) y otra hiperlipídica —HL20— (caseína: 23 %; dextrosa: 45,9 %; aceite de maíz: 20 %). Ambas dietas contenían además: celulosa, 5 %; mezcla de sales, 5,9 %, y mezcla de vitaminas, 0,24 %. La composición en ácidos grasos del aceite de maíz, determinada por cromatografía de gases, resultó ser: palmítico, 11,1 %; palmitoleico, 0,2 %; esteárico, 2,1 %; oleico, 28,2 %; linoleico, 57,1 %; linolénico, 0,9 %; araquídico, 0,3 %, y eicosanoico, < 0,1 %. Su concentración en alfatocoferol quedó determinada por la aportada por el propio aceite de maíz (280 ppm) más la añadida en ambas dietas para evitar la oxidación de los ácidos grasos (75 mg/kg dieta). Además, se controló que el aceite utilizado no contuviera factores potencialmente capaces de influir en la carcinogénesis tales como ácidos grasos trans o antioxidantes fenólicos. Finalmente, se incrementó el contenido en metionina (0,51 % en N3 y 0,66 % en HL20), colina (1.800 mg/kg dieta) y ácido fólico (5 mg/kg dieta) para garantizar el metabolismo lipídico.

Correspondencia: Dr. E. Escrich.
Departamento de Biología Celular y Fisiología. Facultad de Medicina.
Universidad Autónoma.
08193 Bellaterra. Barcelona.

Recibido el 18 de septiembre de 1991.
Aceptado para su publicación el 18 de noviembre de 1991.

Animales

Se han utilizado ratas Sprague-Dawle procedentes del Centro de Producción Animal de la Universidad Autónoma de Barcelona (origen ICO:OFA,SD,[IOPSCaw]). Al inicio del estudio los animales tenían 22 días de edad y un peso medio de 483 g (DE = 3,5 g). A lo largo del mismo dichos animales permanecieron en condiciones ambientales constantes reguladas automáticamente a 21±1 °C de temperatura y un ritmo diario de 12 horas de luz artificial y 12 de oscuridad. Todos los animales fueron alimentados *ad libitum* con agua corriente y dieta N3 o HL20 según el grupo experimental.

Modelo experimental

Seguindo el método de Huggins et al^{2, 3}, todas las ratas recibieron una única dosis de 5 mg por rata de dimetilbenz(a) antraceno (DMBA Sigma) a los 53 días de edad. Dicho carcinógeno fue administrado disuelto en aceite de maíz mediante instilación buco-gástrica.

Diseño experimental

Integraron la serie experimental un total de 80 animales repartidos en 4 grupos de 20 ratas. En todos los grupos, los animales fueron destetados el día 22 y se les administró el carcinógeno (DMBA) el día 53. A partir del destete se administraron las dietas experimentales: «normal» (N3) o hiperlipídica (HL20). Los 20 animales alimentados con dieta N3 durante todo el estudio constituyeron el grupo control (C). Los otros 3 grupos experimentales (iniciación [I], promoción [P] y crecimiento [D]) estuvieron sometidos a dieta N3 y/o HL20 según un diseño que sigue el del modelo de la carcinogénesis en distintas fases. Así, para estudiar la influencia de la dieta hiperlipídica sobre la iniciación de la carcinogénesis se constituyó el grupo «I» en el que los animales recibieron dieta HL20 desde el destete hasta el sacrificio. Para estudiar el efecto promotor de tal dieta se estableció el grupo P. Los animales de este grupo recibieron dieta N3 desde el destete hasta la inducción con el carcinógeno y HL20 desde esa fecha hasta el final del estudio. Finalmente, se formó el grupo D para poder estudiar el efecto de la dieta HL20 sobre el contenido tumoral en etapas avanzadas de la carcinogénesis. Los animales de dicho grupo recibieron dieta HL20 a partir del día 157.

Para evitar problemas en la absorción del carcinógeno, los animales del grupo I recibieron dieta N3 durante un período de tiempo comprendido entre 2 días antes y uno después de la fecha de la inducción con DMBA (días 51 a 54). Por el mismo motivo, en el grupo P no se empezó a administrar la dieta HL20 hasta un día después de la inducción (día 54).

Los animales fueron sacrificados a los 214 días de edad (161 días postinducción con DMBA). En ese momento se procedió a la localización y la exéresis de los tumores. Una pequeña parte de los mismos fue depositada en formol al 10 %, tamponado con fosfatos, para su posterior diagnóstico anatomopatológico. El diagnóstico se basó fundamentalmente en los criterios de Young y Hallowes⁴.

Análisis estadístico

La comparación de las reparticiones observadas entre los distintos grupos se ha realizado mediante la prueba de la χ^2 .

RESULTADOS

Las afecciones mamarias constituyen la mayor parte de la patología que se desarrolló en los animales. Los distintos tipos anatomopatológicos y el número de ellos que aparecieron al final del ensayo se muestran en la tabla 1. Como puede observarse en dicha tabla, en los cuatro grupos experimen-

TABLA 1. Patología mamaria

	C	I	P	D
Patología neoplásica maligna				
Adenocarcinomas	62	66	89	50
Asociación adenocarcinoma con áreas adenomatosas	1	2	1	3
Neoplasia maligna indiferenciada	1			
Patología neoplásica dudosa				
Expresión histológica ambigua			1	
Patología benigna				
Neoplásica				
Adenomas	1			
Fibroadenomas	2	2	4	3
Otras				
Hemangiomas		1		
Lipomas				1
Otras lesiones				
Quísticas				
Epidermoides	2			
Ductales				1
No quísticas				
Hiperplasias lobulillares		3	1	3
Esteatonecrosis		3		
Mastitis			1	

C: grupo control. I: grupo iniciación. P: grupo promoción. D: grupo crecimiento.

tales, la patología mamaria maligna fue la más abundante y estuvo compuesta en su gran mayoría por adenocarcinomas puros ($p < 0,01$); sin embargo, un reducido número de ellos se hallaron asociados con áreas adenomatosas benignas. En un único caso, del grupo control, apareció un tumor maligno que se clasificó como neoplasia maligna indiferenciada.

La comparación de la distribución de los adenocarcinomas entre los distintos grupos experimentales y el grupo control demuestra un mayor número de tales tumores en el grupo de la promoción ($p < 0,05$).

A diferencia de los tumores malignos, la patología benigna presentó baja incidencia en los cuatro grupos experimentales. Dicha patología estuvo formada por tumores y otras lesiones mamarias. Los tumores que aparecieron en los diferentes grupos fueron: 11 fibroadenomas, un adenoma, un hemangioma y un lipoma; y entre las afecciones benignas las hubo de «tipo quístico» (2 epidermoides y una ductal) y «no quístico» (7 hiperplasias lobulillares, 3 esteatonecrosis y una mastitis). El bajo número de casos existente no permitió realizar el análisis comparativo entre grupos experimentales. Solamente en un tumor de todos los examinados no se pudo discernir, desde el punto de vista histológico, entre benignidad o malignidad. Este tumor apareció en el grupo P (promoción) y fue clasificado como «tumor de expresión histológica ambigua» (EHA).

Además de la patología mamaria se observaron 4 casos de tumores no mamarios, dos malignos y dos benignos. Los primeros fueron un adenocarcinoma uterino (endometrial) poco diferenciado y un tumor maligno indiferenciado uterino, ambos en el grupo P. Los dos benignos se presentaron en grupos distintos: un tumor pilosebáceo de la piel en el grupo I y un lipoma en el grupo P.

DISCUSIÓN

Examinando los resultados obtenidos en este estudio se aprecia que existen dos factores que destacan: predominancia de tumores mamarios malignos en los cuatro grupos experimentales y, al comparar entre grupos, mayor número de tales tumores en el grupo P.

El primer resultado está directamente relacionado con las acciones del carcinógeno. Es un hecho conocido que el DMBA, cuando se administra vía buco-gástrica, provoca la aparición selectiva de adenocarcinomas mamarios^{2, 5}. En consecuencia esta situación debe ser considerada más bien como una validación del modelo experimental⁶ que como un resultado específico del estudio.

En el sentido contrario, los efectos del tipo y la cantidad de lípidos de la dieta se han manifestado al comparar el número de tumores que han aparecido en los distintos grupos experimentales en relación con los del grupo control. El estudio había sido diseñado para valorar tales efectos sobre la iniciación y la promoción. El mayor número de tumores hallado en el grupo P indicaría que la dieta hiperlipídica utilizada es un promotor de la carcinogénesis mamaria. Además, dicha dieta no parece tener ninguna acción sobre la iniciación ni sobre la aparición de nuevos tumores al ser administrada en la edad adulta del animal. Sin embargo, resulta paradójico el resultado encontrado en el grupo I. Los animales de este grupo fueron sometidos a dieta hiperlipídica desde el destete hasta el final del ensayo. Por tanto, cabría esperar que, aunque esta dieta no tuviese efecto sobre la iniciación, el número de tumores de dicho grupo fuese, por lo menos, del mismo orden que el del grupo P. Existen varias posibilidades que pueden justificar tal situación. La más probable de ellas se fundamenta en las estrictas condiciones necesarias para producir el máximo rendimiento en la carcinogénesis mamaria por DMBA^{2, 5}. Entre éstas, la más importante es el momento en que se realiza la inducción. En condiciones normales, a los 50-55 días de edad de las ratas, se dan una serie de condiciones hormonales y de síntesis de ADN, entre otras, que hacen a los animales más receptivos a los efectos carcinogénicos del DMBA⁷.

Por otra parte, se ha descrito que los animales alimentados con dietas ricas en lípidos pueden tener crecimiento más rápido y modificaciones en sus funciones reproductoras⁸. Por tanto, podría muy bien suponerse que los animales del grupo I, que recibieron dieta hiperlipídica desde el destete, se desarrollaron más rápidamente que los de los otros 3 grupos (alimentados durante ese tiempo con dieta normal). En estos animales del grupo I, la administración del carcinógeno no se produciría en el momento más óptimo de su desarrollo; a pesar de haber sido inducidos a los 53 días de edad. Por el contrario, el resto de ratas (grupos C, P y D), al haber sido alimentadas con dieta normal hasta ese momento, al recibir el carcinógeno a los 53 días de edad, desarrollarían al máximo el potencial carcinogénico del DMBA. El claro efecto promotor manifestado por la dieta hiperlipídica actuaría a lo largo del estudio compensando este menor rendimiento y sería la causa de que el resultado obtenido en el grupo I sea del mismo orden que el del grupo control.

Existen todavía otras posibilidades que podrían haber influido en los resultados discutidos anteriormente. El problema podría residir en la absorción del carcinógeno, ello a pesar de que en dicho grupo se adoptó la precaución de sustituir la dieta hiperlipídica por dieta normal 2 días antes de la administración del carcinógeno y un día después de la misma.

Debe considerarse, en este sentido, que el carcinógeno se disuelve en aceite y, por tanto, en los animales del grupo I, los únicos que habían sido alimentados hasta dos días antes con dieta hiperlipídica, podría haber existido saturación del sistema de absorción de lípidos. Otra posibilidad podría venir dada por un descenso en la metabolización del carcinógeno como consecuencia del exceso en lípidos ingeridos por los animales del grupo I —hay que tener en cuenta que los auténticos carcinógenos son los metabolitos del DMBA—⁹. No obstante, esta posibilidad queda prácticamente descartada, puesto que no se encontraron patologías asociadas a problemas en el metabolismo lipídico como la esteatosis hepática (dato no mostrado). Finalmente, por el mismo exceso de lípidos y a pesar de las precauciones descritas anteriormente, podría haberse dado un cierto lipotrofismo que hubiera impedido, o retardado, la metabolización de la parte de DMBA retenida en el tejido adiposo¹⁰. En cualquier caso, el efecto final hubiera sido también el descenso del rendimiento en la carcinogénesis.

En conclusión, las dietas ricas en lípidos poliinsaturados del tipo del ácido linoleico han tenido un claro efecto promotor en este ensayo cuando han sido administradas después del carcinógeno. Los resultados obtenidos también indican que dichas dietas no tienen acción sobre la iniciación. Sin embargo, la posibilidad de que tales dietas hayan inducido cambios en los animales que hayan modificado la eficacia de la carcinogénesis no permite afirmar esta conclusión. Un nuevo ensayo en el que el momento de la inducción de los animales del grupo I se realizase considerando tales cambios permitiría, probablemente, dilucidar si los lípidos de la dieta tienen algún tipo de acción sobre la iniciación.

Bibliografía

1. Escrich E, Segura R. Factores de la dieta y cáncer de mama. *Senol Patol Mam* 1991; 4: 86-96.
2. Huggins C, Grand LC, Brillantes FP. Mammary cancer induced by a single feeding of polynuclear hydrocarbons, and its suppression. *Nature* 1961; 189: 204-207.
3. Huggins C, Morii S, Grand LC. Mammary cancer induced by a single dose of polynuclear hydrocarbons: routes of administration. *Ann Surg* 1961; 154: 315-318.
4. Young S, Hallows RC. Tumours of the mammary gland. In: *Pathology of tumour in laboratory animals*, Vol. 1. Tumours of the rat. Part I, 1973. Turosov, Lyon, IARC, 31-74.
5. Escrich E. Mammary cancer model induced by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene: a good experimental tool for the study of tumour markers. *Int J Biol Markers* 1987; 2: 109-119.
6. Escrich E. Validity of the DMBA-induced mammary cancer model for the study of human breast cancer. *Int J Biol Markers* 1987; 2: 197-206.
7. Nagasawa H, Yanai R, Taniguchi H. Importance of mammary gland DNA synthesis on carcinogen-induced mammary tumorigenesis in rats. *Cancer Res* 1976; 36: 2.223-2.226.
8. Innami S, Yang MG, Mickelsen O, Hafs HD. The influence of high-fat diets on estrous cycles, sperm production and fertility of rats (37253). *Proc Soc Exp Biol Med* 1973; 143: 63-68.
9. Dipple A, Michejda CJ, Weisburger EK. Metabolism of chemical carcinogens. En: Grunberger D, Goff S, eds. *Mechanism of cellular transformation by carcinogenic agents*. Pergamon Press, 1987; 1-32.
10. Lindstrom MB, Barrow JA, Borgstrom B. Fate of 7,12-dimethylbenz(a)anthracene absorbed from the rat intestine and transported in chylomicrons. *Lipids* 1987; 22: 278-281.